



Buněčné komunikace

Buněčná komunikace

Cesta od jednobuněčných k mnohobuněčným organismům (asi 2,5 bil. let)
Dáno zejména potřebou vytvoření **signálních mechanismů, které umožňují vzájemnou komunikaci buněk, aby chování buněk mohlo být správně koordinováno.**

Selhání této kontroly – patologické stavy, např. vznik nádorového onemocnění

Organizace tkáně je zachována díky třem faktorům:

1. Buněčná komunikace – buňky kontrolují své okolí a vnímají signály od ostatních buněk (růstové faktory, faktory pro přežití). Nové buňky vznikají pouze tehdy a tam, kde je třeba.

2. Selektivní mezibuněčná adheze – různé buňky mají na povrchu různé adhezivní molekuly, které mají tendence vázat se k buňkám stejného typu, s určitými jinými buněčnými typy nebo specifickými složkami extracelulární matrix (ECM). Zabraňuje chaotickému míchání různých buněčných typů.

3. Buněčná paměť – speciální formy genové exprese vzniklé během embryonálního vývoje jsou stabilně udržovány – buňky si uchovávají svůj charakter a přenášejí ho na potomstvo.

Chování buněk a rovnováha v buněčných populacích jsou regulovány komplexním integrovaným komunikačním systémem, který zahrnuje

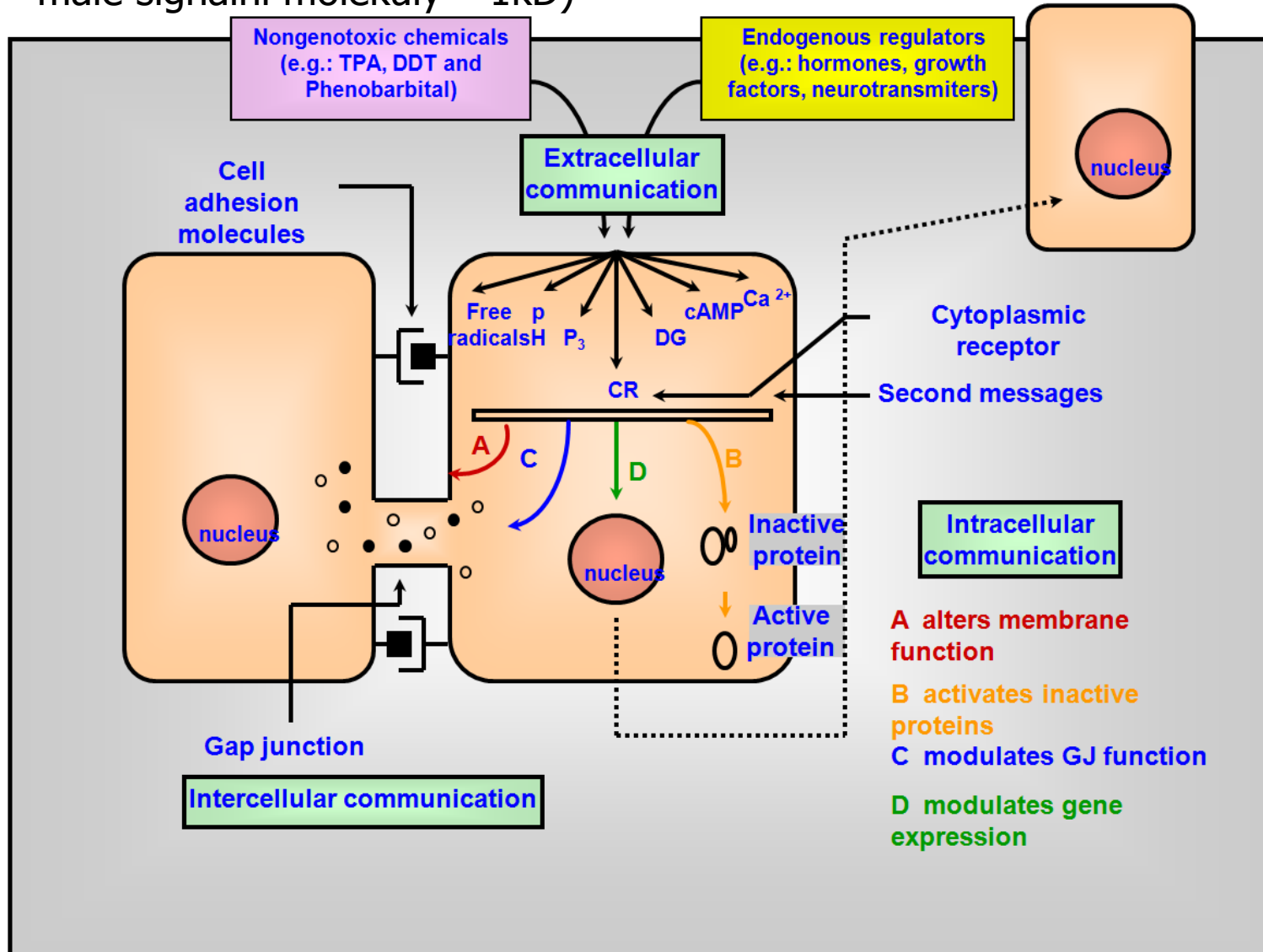
signály mimobuněčné, mezibuněčné a vnitrobuněčné.

Živočišné buňky obsahují systém proteinů, který jim umožňuje reagovat na signály jiných buněk.

Zahrnuje

receptorové proteiny na buněčném povrchu nebo uvnitř buněk (v cytoplasmě nebo v jádře), proteinové kinázy, fosfatázy, proteiny vážící se na GTP a řadu dalších vnitrobuněčných proteinů, se kterými tyto signály interagují.

Typy komunikace: **mimobuněčná** (endogenní regulátory – hormony, cytokiny, neurotransmitery, exogenní látky – potrava, chemikálie), **vnitrobuněčná** (druzí poslové, přenos signálů) a **mezibuněčná** (gap junctions – malé signální molekuly – 1kD)



Typy signálů

Synaptické – nervové buňky nebo neurony, produkce neurotransmiteru. Působí méně ve vyšších koncentracích (5×10^{-4} M) a jejich receptory mají relativně nízkou afinitu ke svým ligandům.

Endokrinní – hormony přecházejí krevním řečištěm k cílovým buňkám. Tyto signály jsou relativně pomalé proti nervovým signálům, působí však ve velmi nízkých koncentracích (méně než 10^{-8} M)

Parakrinní – lokální ovlivňování buněk na krátké vzdálenosti (cytokiny, eikosanoidy)

Autokrinní – buňka vysílá signál, který se váže zpětně na její receptor. Důležité při raném vývoji a odpovědi na diferenciační signály a u eikosanoidů.

Formy mezibuněčných signálů

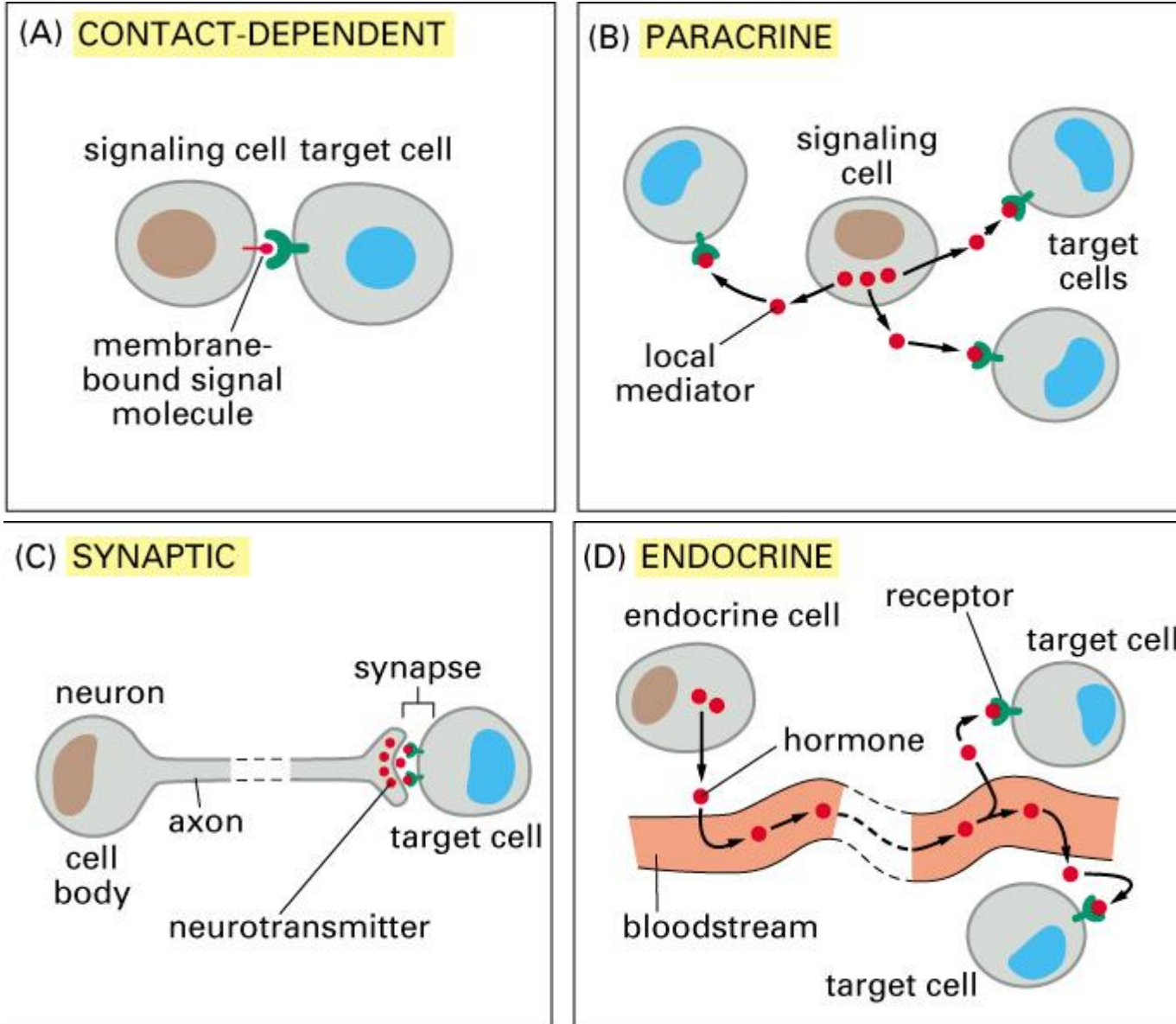
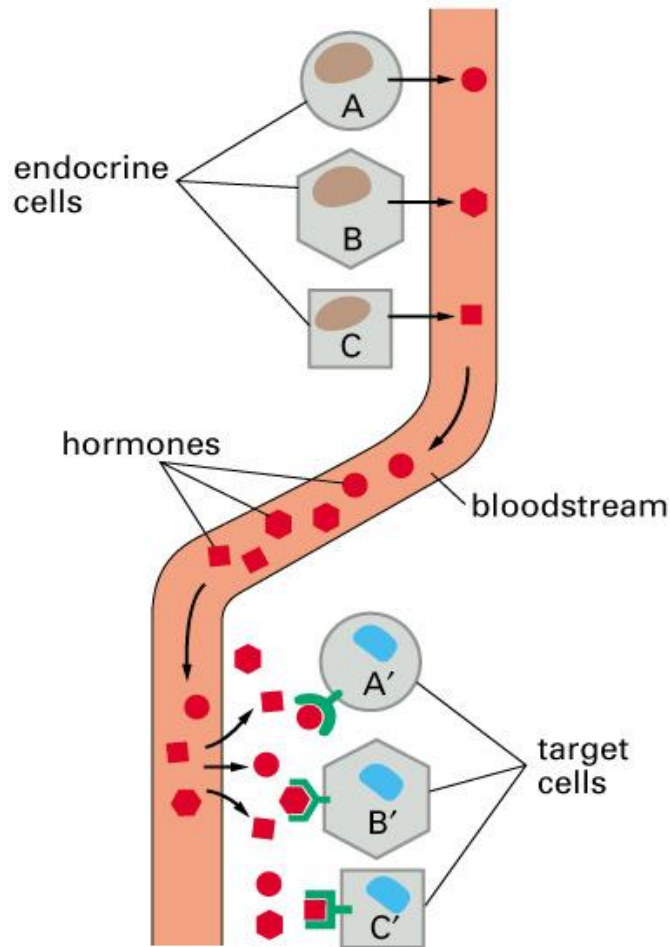


Figure 15–4 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Rozdíl mezi endokrinním a synaptickým signálem

(A) ENDOCRINE SIGNALING



(B) SYNAPTIC SIGNALING

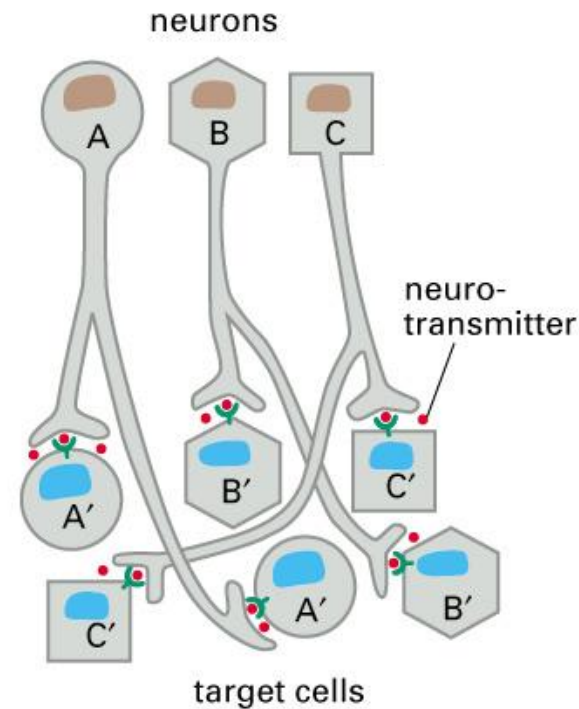
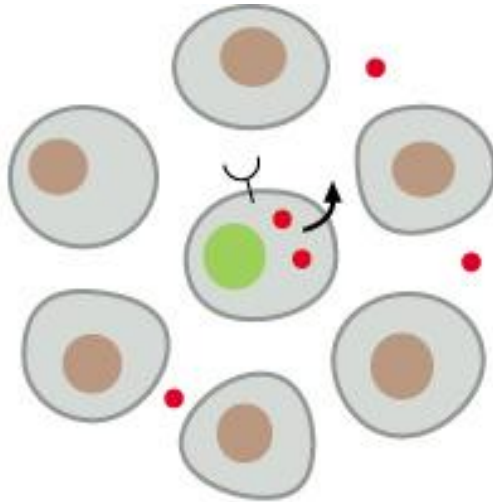
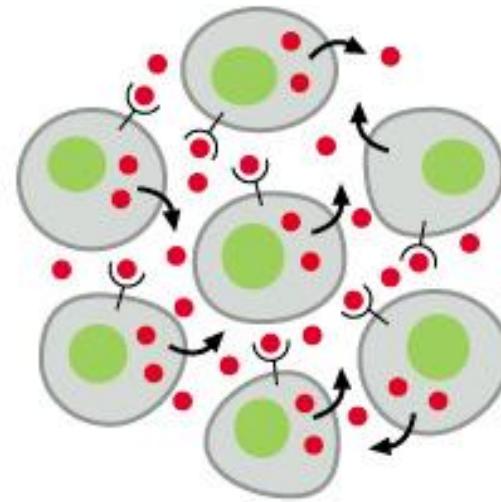


Figure 15-5 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Autokrinní signál



A SINGLE SIGNALING CELL
RECEIVES A WEAK AUTOCRINE
SIGNAL



IN A GROUP OF IDENTICAL SIGNALING
CELLS, EACH CELL RECEIVES A STRONG
AUTOCRINE SIGNAL

Figure 15–6. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Transdukce (přenos) signálů

Zpráva přijatá na povrchu buňky je předávána od jednoho souboru **vnitrobuněčných signálních molekul** ke druhému, přičemž každý soubor vyvolává tvorbu dalšího.

Klíčové vnitrobuněčné signální proteiny

molekulové přepínače – jsou signálem převedeny z neaktivního do aktivního stavu a pak zase inaktivovány

Signalizace fosforylací – aktivace kinázou a inaktivace fosfatázou

Signalizace pomocí GTP-vazebných proteinů – aktivace převod GDP-GTP, inaktivace hydrolýzou GTP

Nakonec je např. aktivován metabolický enzym, zahájena exprese genu nebo změněn cytoskelet – výsledkem je **biologická odpověď buňky**

Zjednodušené schéma vnitrobuněčné signální dráhy aktivované mimobuněčnou signální molekulou

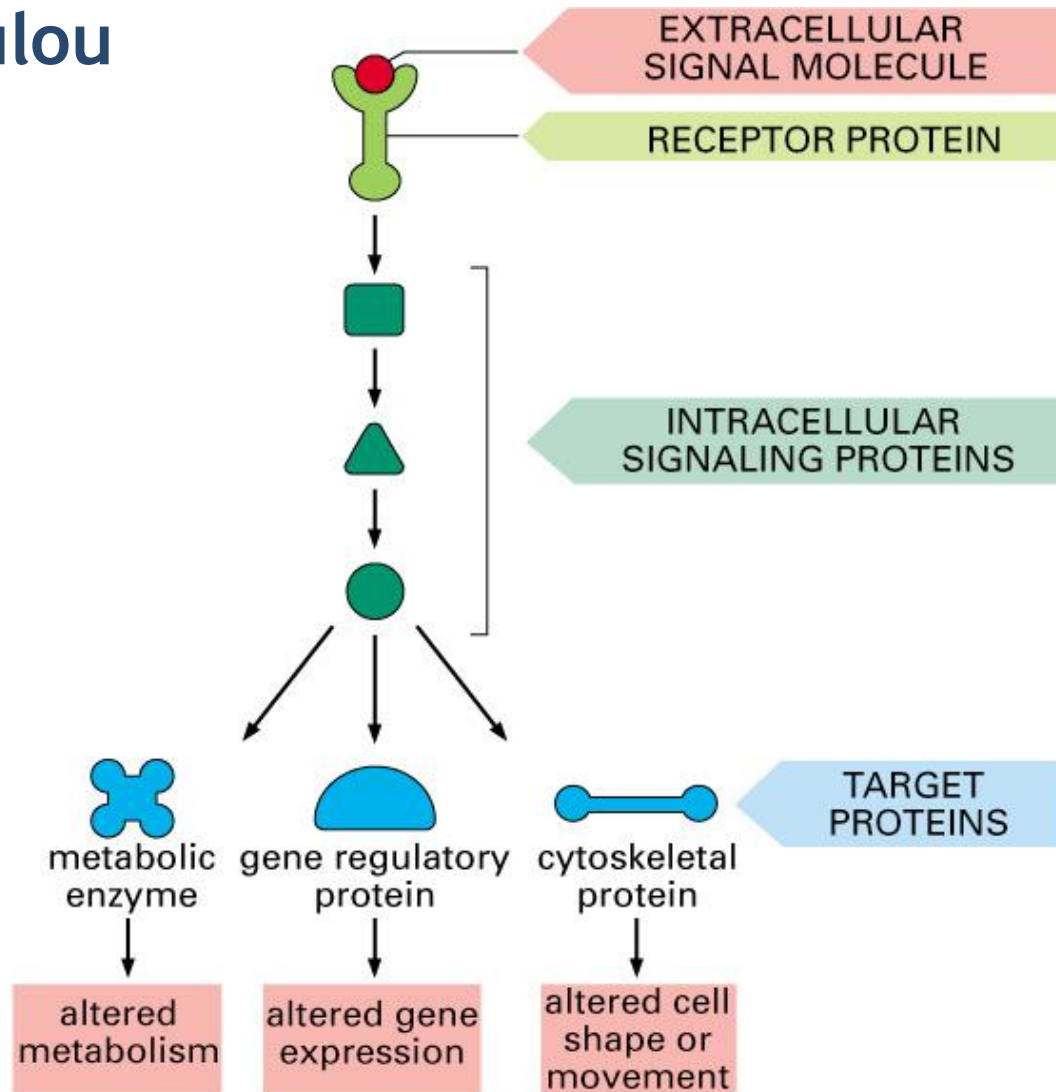


Figure 15–1. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Základní funkce signální kaskády vnitrobuněčných molekul

Fyzicky **přenášejí** signál z bodu, kde byl přijat, do buněčného aparátu, který vytvoří odpověď.

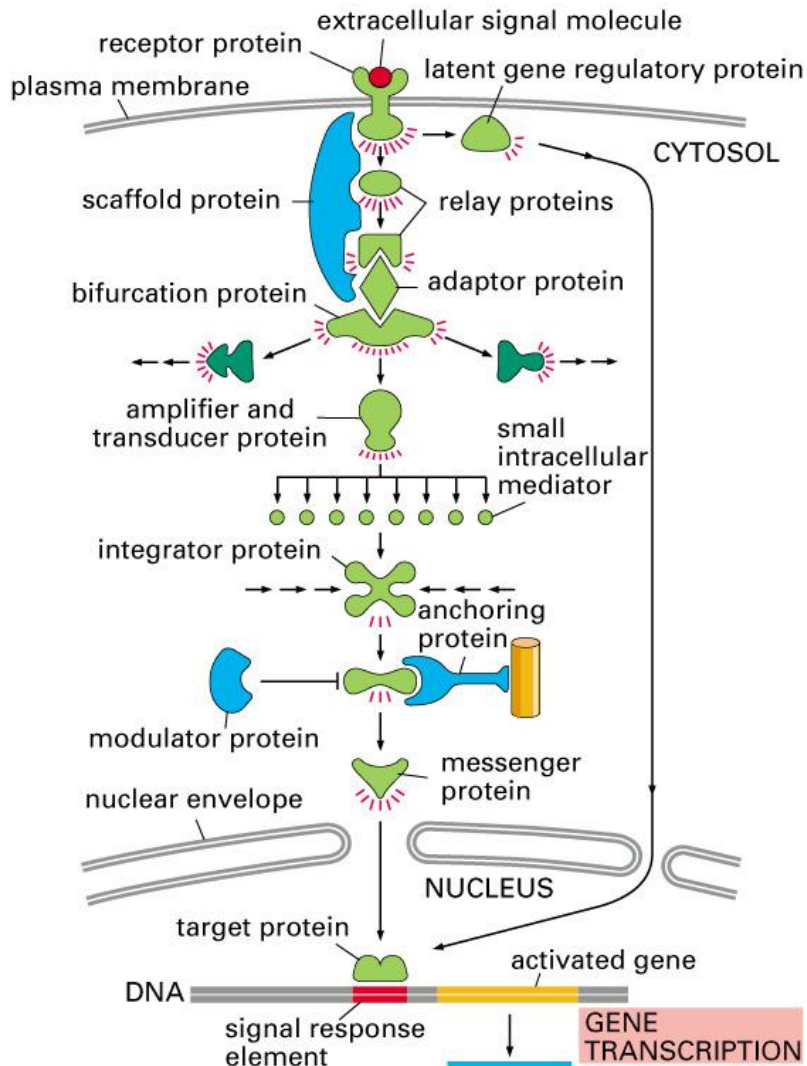
Transformují signál do molekulární podoby, která může odpověď stimulovat.

Signální kaskády mohou přijatý signál **zesilovat**. Pak několik extracelulárních signálních molekul vyvolá rozsáhlou odpověď.

Signální kaskády mohou signál **rozdělit** tak, aby současně ovlivnil několik dějů a mohl být předán různým cílům uvnitř buňky – rozvětvený tok informace a komplexní odpověď.

Každý krok signální kaskády je otevřen působení dalších faktorů a přenos signálu může být **modulován**.

Různé typy vnitrobuněčných signálních proteinů účastnících se signální dráhy od receptoru na povrchu buňky k jádru



Signální proteiny a vnitrobuněčné mediátory předávají mimobuněčný signál do buňky a způsobují **změny genové exprese**.

Mohou signály

- 1) Pouze předávat dál (relay)
- 2) Přenášet z jednoho místa buňky na jiné (messenger)
- 3) Vázat navzájem signální proteiny (adaptor)
- 4) Zesilovat (amplifier)
- 5) Měnit na jinou formu (transducer)
- 6) Rozdělit (bifurcation)
- 7) Integrovat (integrator)

Kromě toho existují proteiny modulující (modulator), ukotvující (anchorage) nebo spojující (scaffold) signální molekuly

Figure 16-16. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Integrace signálu

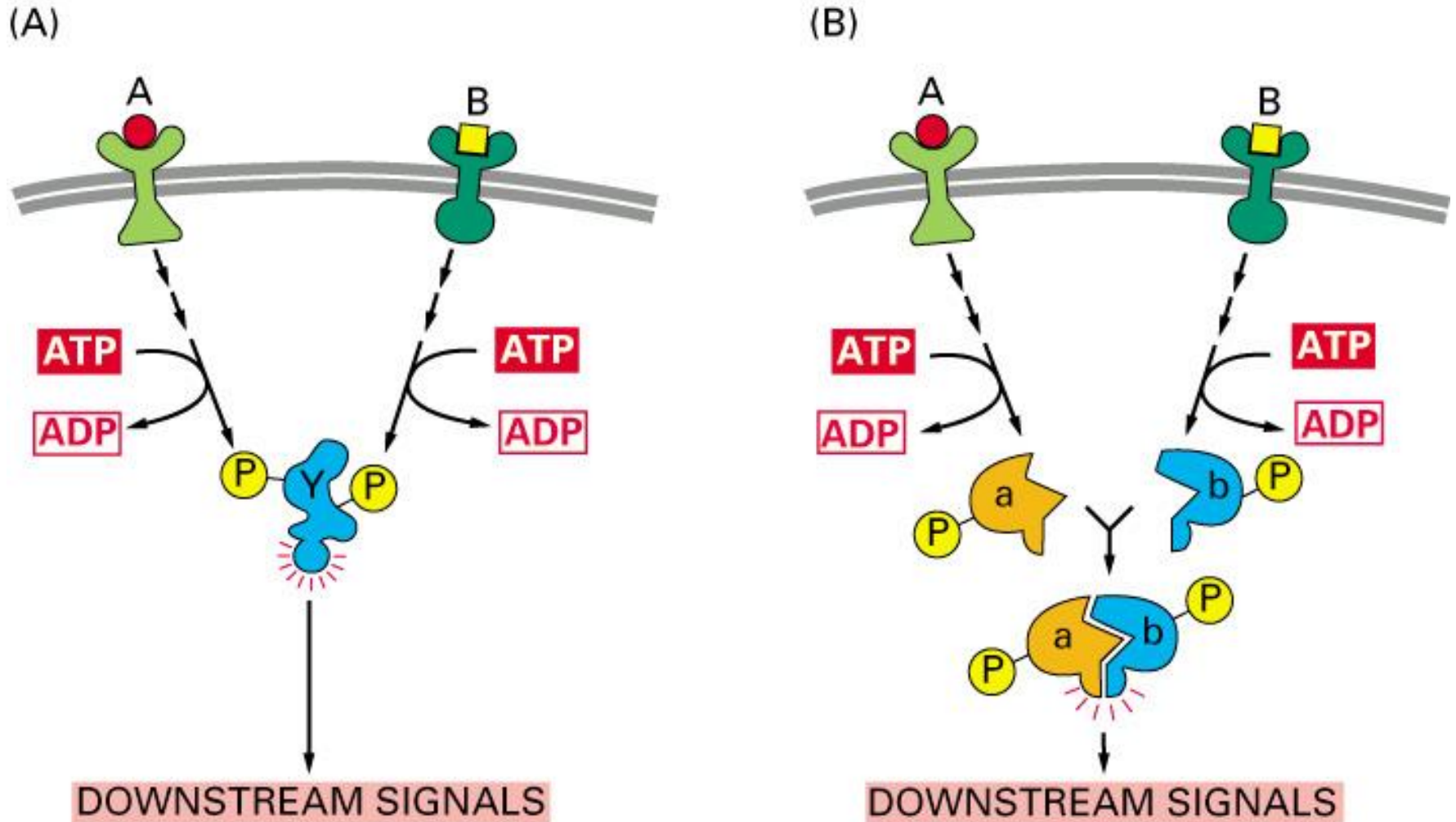
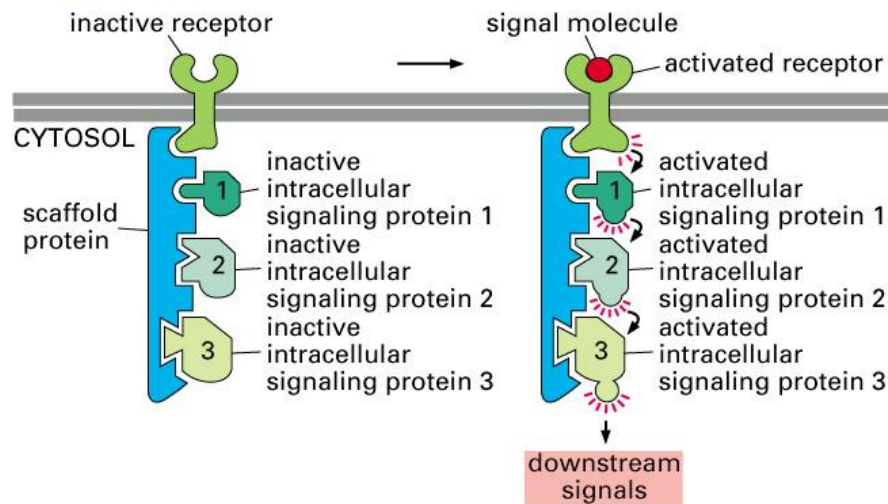


Figure 15–18. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Dva typy vnitrobuněčných signálních komplexů

(A) PREFORMED SIGNALING COMPLEX ON SCAFFOLD



(B) ASSEMBLY OF SIGNALING COMPLEX FOLLOWING RECEPTOR ACTIVATION

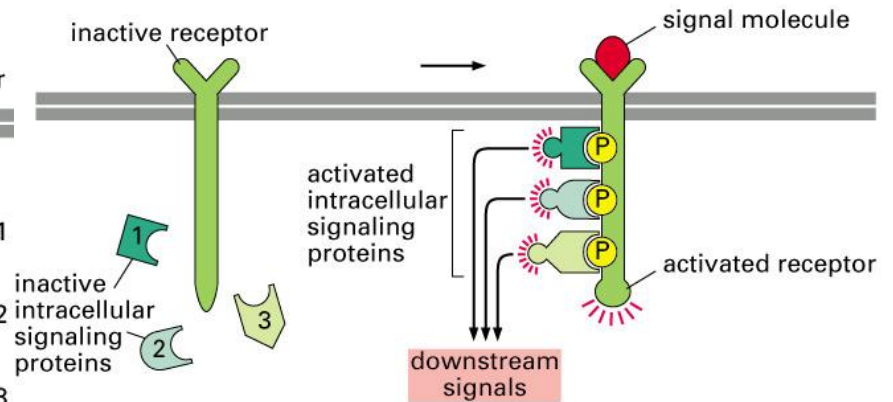


Figure 15–19 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Figure 15–19 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Předem vytvořená konstrukce signálního komplexu aktivovaná po navázání sign. molekuly

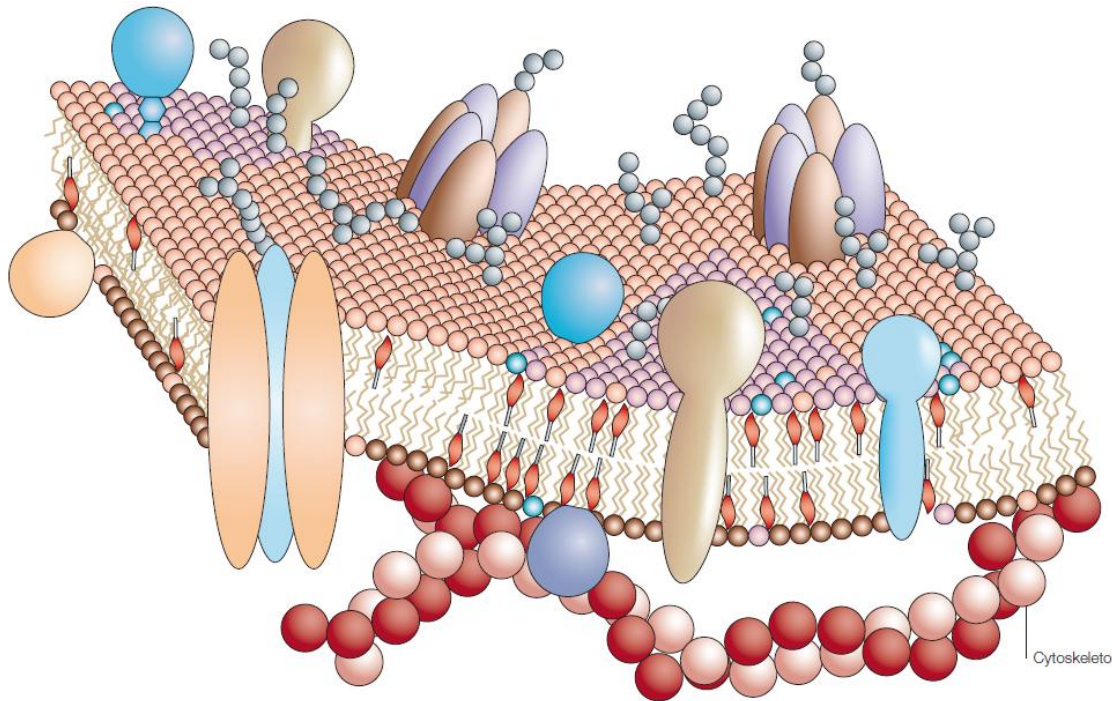
Seskupení signálního komplexu po aktivaci receptoru

Vytváření **stabilních a přechodných signálních komplexů** závisí na řadě vysoce konzervovaných, **malých vazebných domén** nalezených u mnoha vnitrobuněčných signálních proteinů (Src homologní 2 a 3 domény – SH2, SH3, phosphotyrosine-binding (PTB) domény).

Některé povrchové receptory a vnitrobuněčné signální proteiny se sdružují přechodně ve specifických **mikrodoménách lipidové dvojvrstvy plasmatické membrány** bohatých na cholesterol a sfingolipidy – **tzv. lipidové rafty a kaveoly**. Vazby v těchto mikrodoménách pomocí kovalentně připojených lipidových molekul podporují rychlost a účinnost signálního procesu a usnadňují spojení a interakce signálních molekul.

Model buněčné membrány

Fluidní mozaika – buněčná membrána je komplexní struktura složená z různých částí – proteinů, fosfolipidů a cholesterolu. Relativní množství těchto komponent i typy lipidů se liší od membrány k membráně.



Pietzsch J et al., Nature Reviews, 2004

Membránové proteiny

Zakotvené v lipidové dvojvrstvě regulují chování buněk a organizaci buněk ve tkáních.

Adhezivní proteiny drží buňky pohromadě a překlenují membránu jednou

Receptorové proteiny překlenují membránu jednou nebo vícrát. Vazba signální molekuly iniciuje odpověď na druhé straně a dochází k přeměně jednoho typu signálu na jiný – **signální transdukcce**.

Tyto proteiny mají na vnitřní straně membrány dlouhé sekvence hydrofóbních aminokyselin

Lipidové rafty

malé oblasti proteinů a lipidů (mikrodomény) ve vnější části membrány s unikátním složením lipidů – bohaté na sfingolipidy a cholesterol.

Sfingolipidy obsahují dlouhé řetězce nasycených kyselin, jsou pevně vázány v dvojvrstvě (packing) – tvoří gelovou fázi. Po vazbě s cholesterolem se struktura mění – tekutá fáze – více fluidní

Tyto struktury jsou funkčně zahrnuty v kompartmentalizaci, modulaci a integraci buněčných signálů modulují důležité procesy jako buněčný růst, přežití a adhezi.

Zahrnují nebo vylučují specifické proteiny.

Modulace lipidů (DHA)– lipidové rafty – modulace signálů TNFR

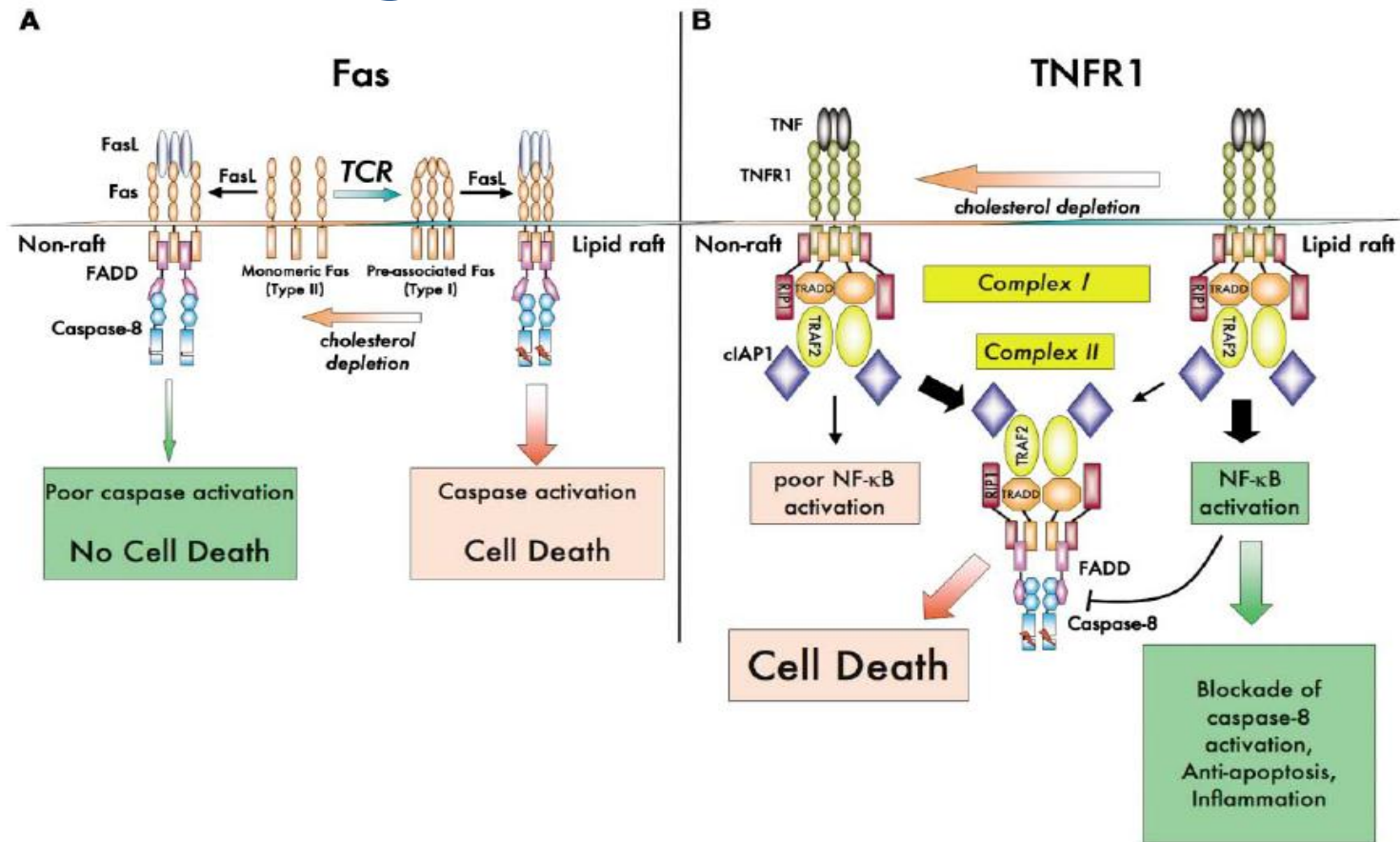


Figure 2. Examples of How Lipid Rafts Can Modify Early Events in TNFR Family Signaling

(A) In activated CD4⁺ T cells, Fas is excluded from lipid rafts. Outside of lipid rafts, Fas is likely to be monomeric. After engagement by FasL, although FADD and caspase-8 are recruited to Fas, they do not signal efficiently for death. Upon TCR restimulation, Fas translocates into lipid rafts where it tends to preassociate. Within lipid rafts, upon FasL binding, FADD and caspase-8 are recruited to Fas where caspase-8 can autoactivate and trigger cell death.

(B) Upon TNF binding, TNFR1 translocates into lipid rafts wherein complex I formation takes place and results in the activation of NF-κB. Through mechanisms described in Figure 1, NF-κB can inhibit caspase activation within complex II. When cholesterol is depleted, lipid raft structure is disrupted and complex I forms outside of lipid rafts and cannot signal efficiently for NF-κB and therefore cannot inhibit death induced by complex II. The thickness of the arrows indicates relative efficiency of each signaling pathway.

Většina mimobuněčných signálů je zprostředkována **hydrofilními molekulami, které se váží na receptor na povrchu cílové buňky.**

Některé signální molekuly jsou dostatečně **hydrofobní nebo malé**, že snadno projdou přes plasmatickou membránu a uvnitř pak přímo regulují **aktivitu specifických vnitrobuněčných proteinů.**

Např. molekuly některých plynů jako je **oxid dusíku (NO) nebo uhlíku (CO).**

NO je vytvářen enzymem NO syntázou deaminací aminokyseliny argininu. NO difunduje skrz membránu buňky, která jej tvoří a prochází do sousedních buněk. Funguje jen lokálně, protože má krátký poločas života, pouze 5-10 vteřin, a v mimobuněčném prostoru je přeměňován na nitráty nebo nitrity. V mnoha cílových buňkách např. v endoteliálních, reaguje NO s železem v aktivním místě enzymu guanylyl cyklázy a stimuluje produkci vnitrobuněčného mediátoru cyklického GMP.

Podobně funguje CO.

Oxid dusíku

NO - důležitá signální molekula pro působení acetylcholinu uvolňovaného autonomním nervstvem ve stěnách krevních cév. Uvolněný NO funguje jako relaxační signál a způsobuje **uvolnění hladkého svalstva ve stěnách cév.**

Tento účinek NO na krevní cévy je podstatou **působení nitroglycerinu**, který je již více než 100 let používán jako lék pro pacienty s anginou pectoris trpících bolestí způsobenou nedostatečným zásobováním srdečního svalu krví. Nitroglycerin je přeměňován na NO, který uvolňuje svaly cév, čímž redukuje nápor na srdce a snižuje tak požadavek srdečního svalu na kyslík.

NO je produkován také **jako lokální mediátor** aktivovanými makrofágy a **neutrofily** a pomáhá jim **zabíjet mikroorganismy.**

NO je využíván řadou typů nervových buněk pro signálování sousedním buňkám: je uvolňován např. autonomním nervstvem v penisu a způsobuje lokální dilataci krevních cév odpovědnou za **erekcii.**

Úloha oxidu dusíku (NO) v relaxaci buněk hladkého svalstva cévní stěny

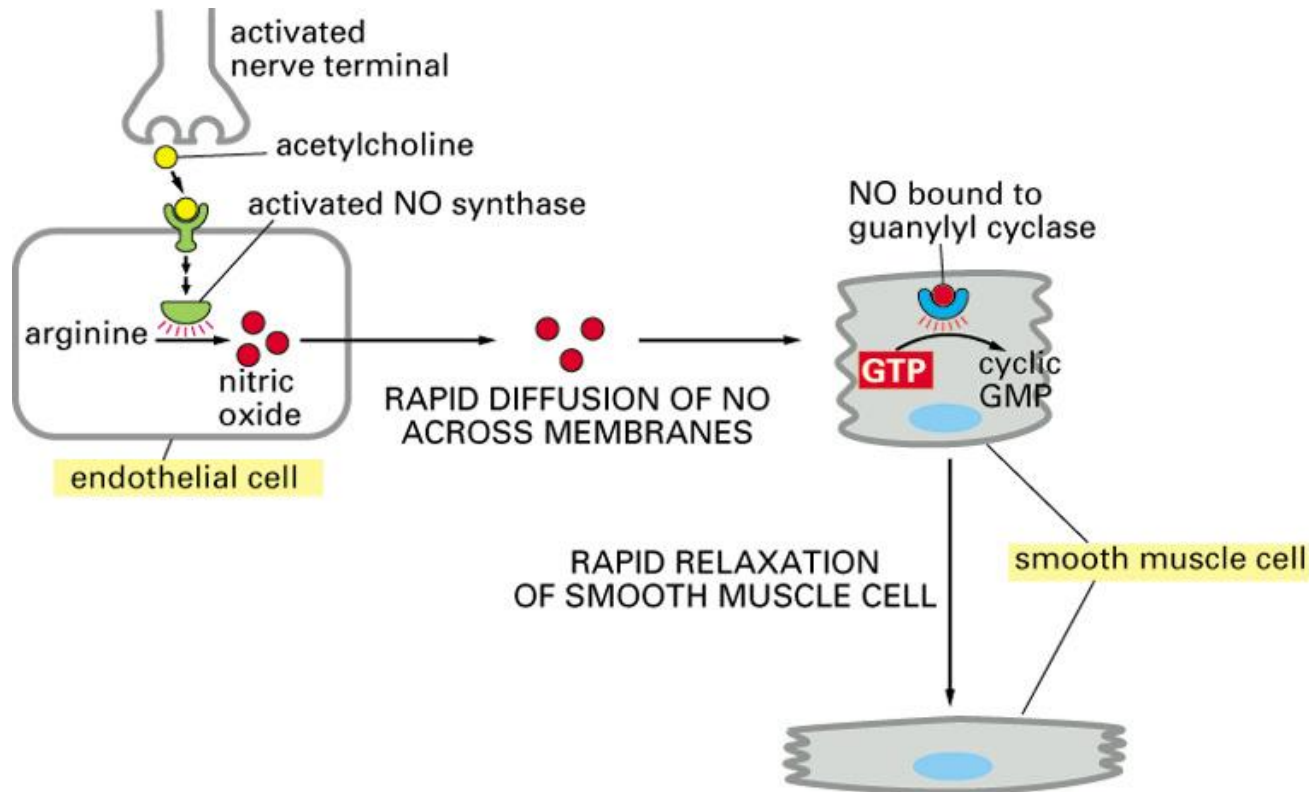
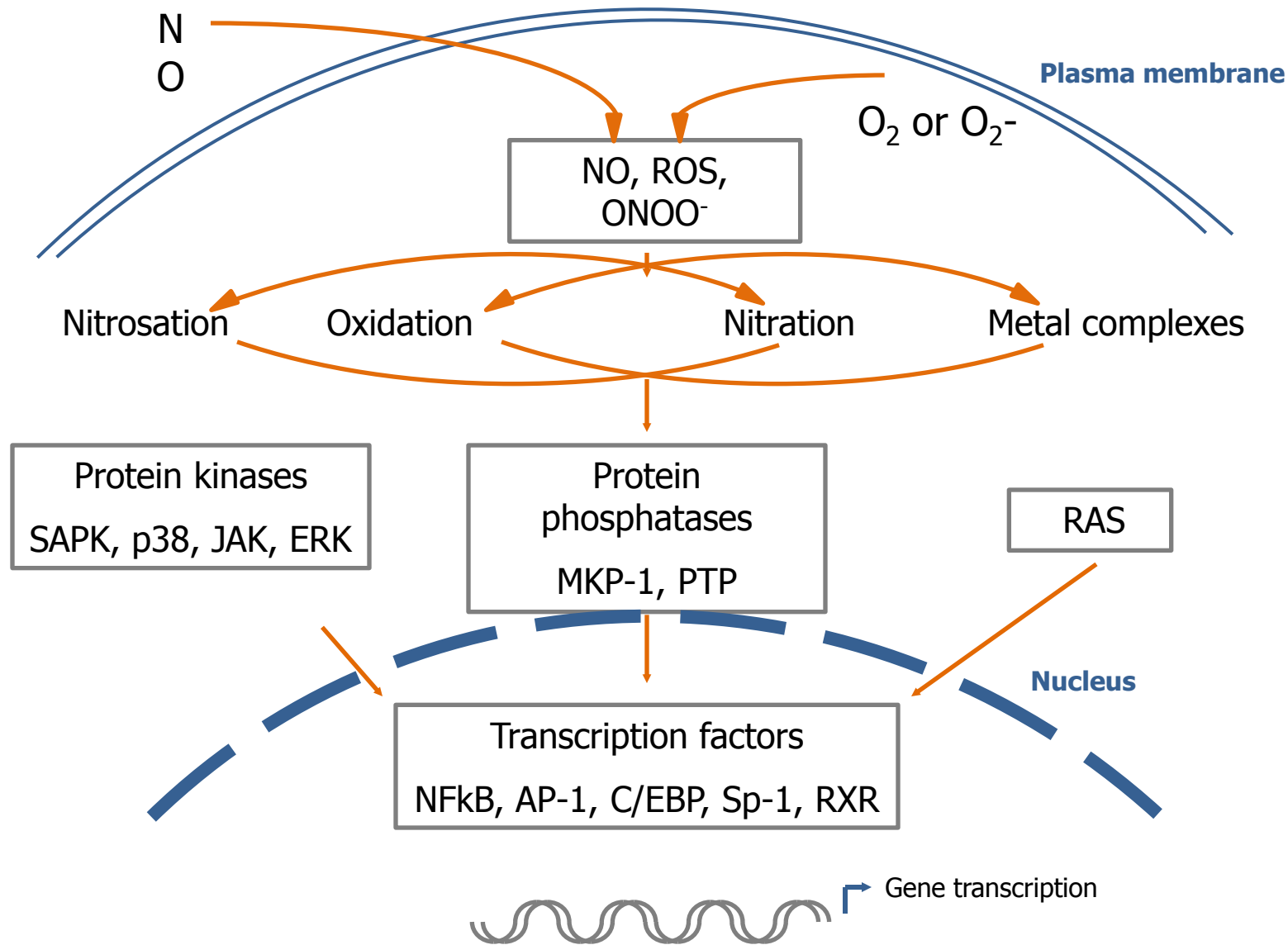


Figure 15–11. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



Hypotetické schéma modulace toku signálu oxidem dusíku (NO) vedoucí ke změnám aktivace transkripčních faktorů a genové exprese (*AP-1* aktivační protein 1, *ERK* mimobuněčným signálem regulovaná kináza, *JAK* Janus protein kináza, *MKP-1* mitogenem aktivovaná protein kináza fosfatáza-1, *NFkB* jaderný faktor kB, *O₂⁻* superoxid, *ONOO⁻* peroxyinitrit, *p38* p38 mitogeny aktivovaná protein kináza, *PTP* protein tyrosin fosfatáza, *Ras* malý GTP-vazebný protein, *ROS* reaktivní kyslíkové metabolity, *RXR* retinoid X receptor, *SAPK* stresem aktivované protein kinázy)

Receptory

Většinou **transmembránové proteiny**, které váží mimobuněčné signální molekuly (hydrofilní) – ligandy a jsou-li aktivovány vzniká kaskáda vnitrobuněčných signálů, které mění chování buňky.

Vnitrobuněčné receptory (v cytoplasmě nebo v jádře) – pro malé hydrofobní ligandy

Každá buňka mnohobuněčného organismu je exponována stovkami různých signálů z prostředí a musí na ně reagovat selektivně.

Specifický způsob odpovědi buňky na okolí se liší podle souboru receptorových proteinů, které buňka má, vnitrobuněčné mašinerie, kterou buňka reaguje a interpretuje získanou informaci. Tak jedna signální molekula může mít často rozdílné účinky na různé cílové buňky.

Buňka reaguje na různé **soubory** signálů buď proliferací, diferenciací, nebo vykonáváním specif. funkcí.

Signály pro přežití – **absence signálů** – programovaná buněčná smrt

Vazba mimobuněčných signálních molekul k povrchovým nebo vnitrobuněčným receptorům

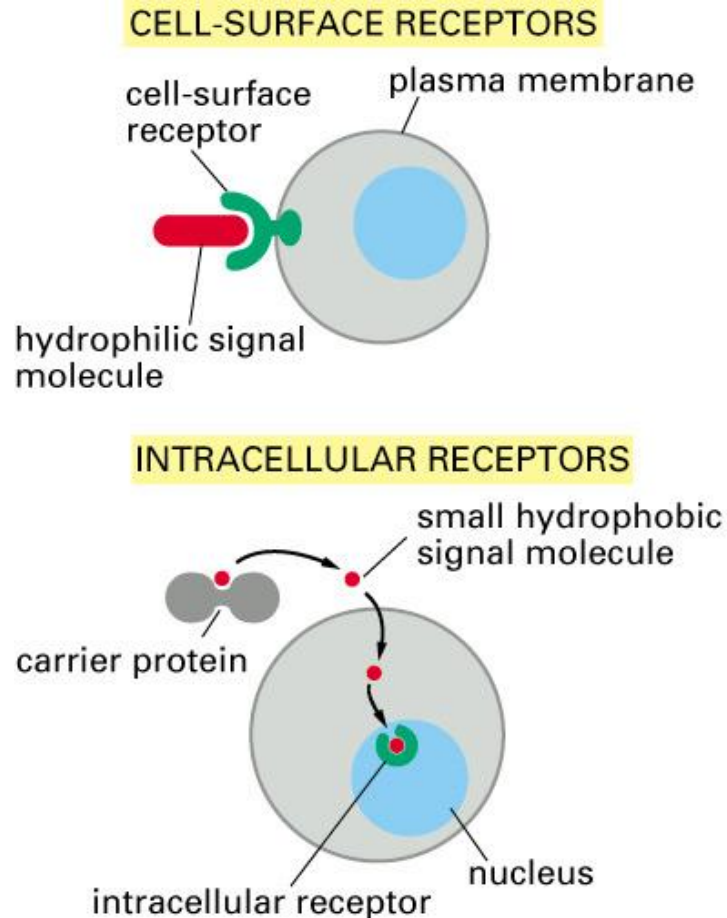


Figure 15-3. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Závislost živočišné buňky na mnohonásobných mimobuněčných signálech

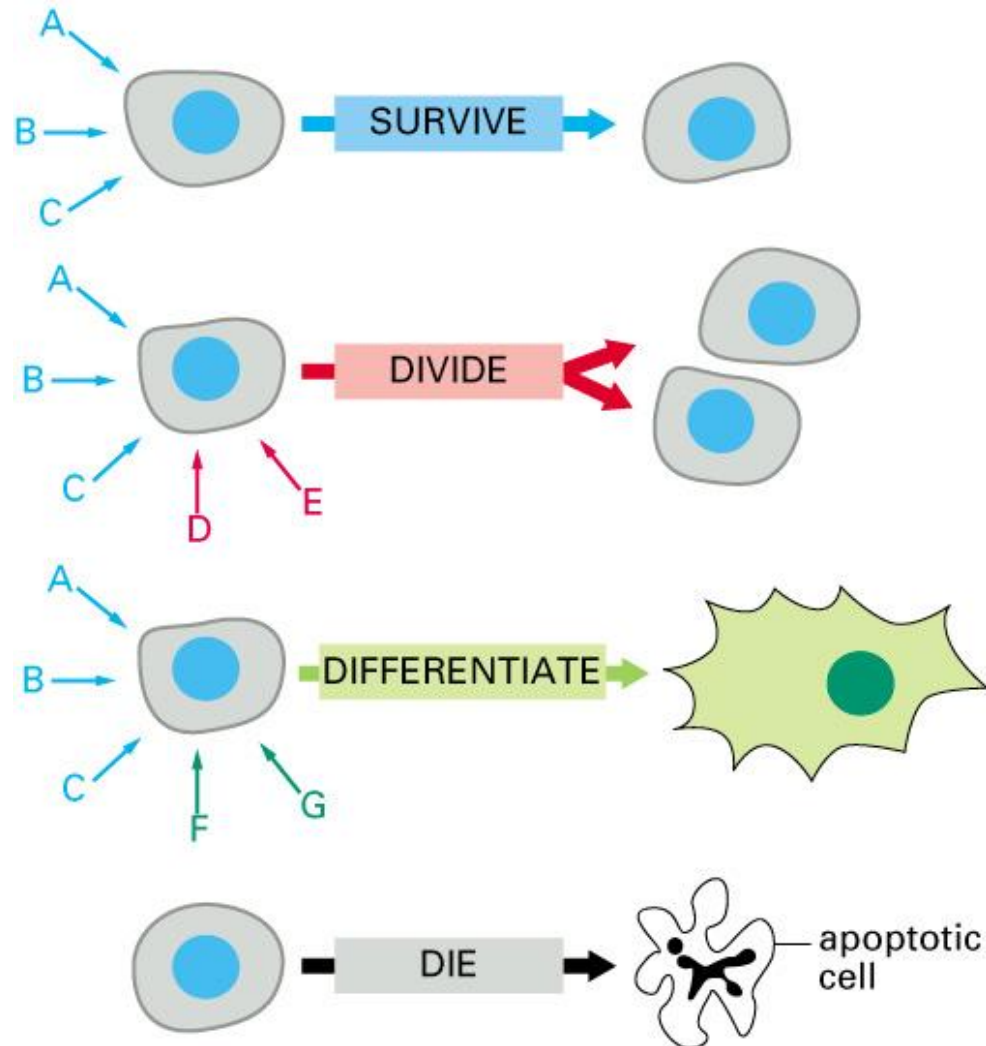
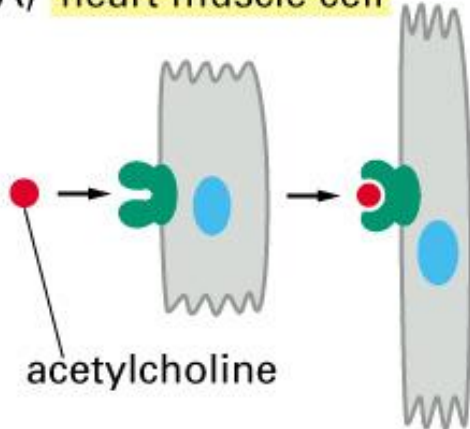


Figure 15-8. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Různé odpovědi indukované neurotransmiterem acetylcholinem

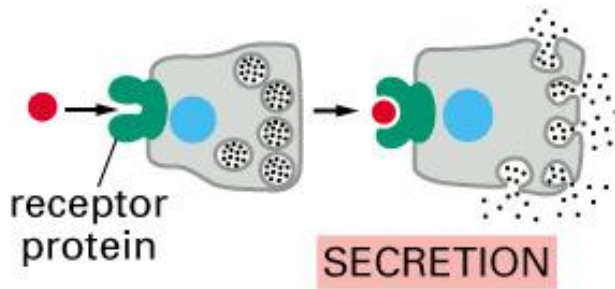
(A) heart muscle cell



acetylcholine

DECREASED RATE AND FORCE OF CONTRACTION

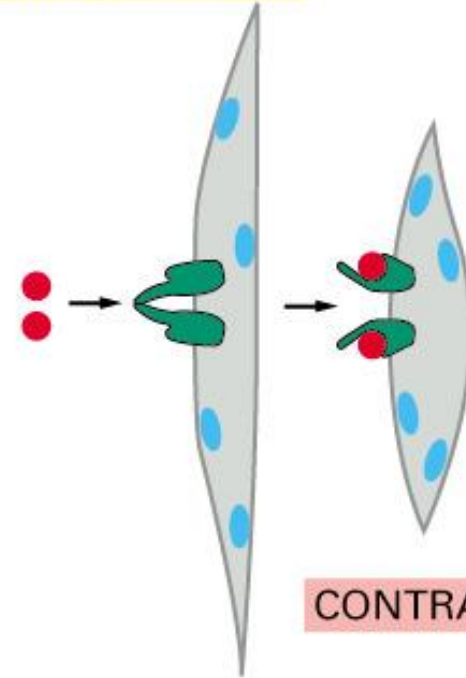
(B) salivary gland cell



receptor protein

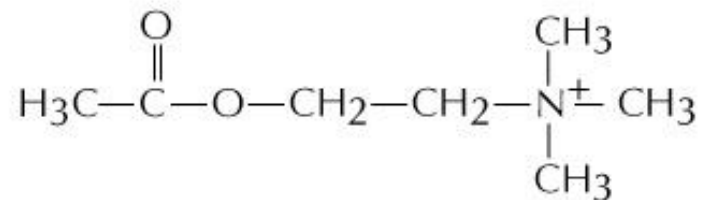
SECRETION

(C) skeletal muscle cell



CONTRACTION

(D) acetylcholine



Povrchové receptory

Přenašeče signálů, které přeměňují vnější podnět na jeden nebo více vnitrobuněčných signálů.

Tři základní typy:

- 1) **vázané na iontové kanály** – pro rychlé synaptické signály el. vybuditelných buněk – nervové buňky, neurotransmitery
- 2) **vázané na G-proteiny**
- 3) **vázané na enzymy**

Ad 1) a 2)

Po aktivaci proteinů je zahájena **fosforylační kaskáda**, kterou je signál přenášen do jádra, kde se mění exprese specifických genů a tím i chování buňky

Hlavní typy proteinových kináz - **serin/treoninové a tyrosinové kinázy** (asi 2% genomu).

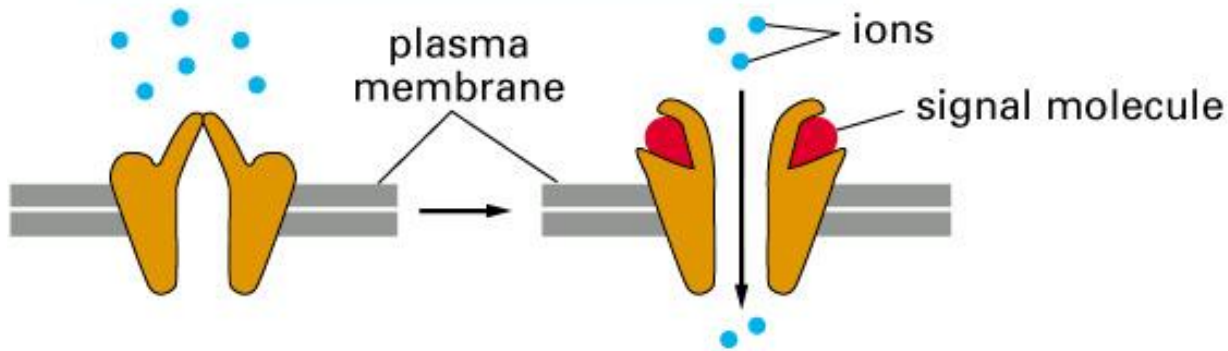
Komplexní chování buňky jako je přežívání a proliferace jsou obecně stimulovány spíše **specifickou kombinací signálů** než jedním samostatným signálem.

Buňka musí **integrovat** informaci přicházející s jednotlivými signály, aby mohla příslušně reagovat - žít či uhynout, proliferovat či zůstat v klidu nebo diferencovat.

Integrace je závislá na interakci mezi různými fosforylačními kaskádami proteinů, které jsou aktivovány různými vnějšími signály.

Tři typy buněčných povrchových receptorů

(A) ION-CHANNEL-LINKED RECEPTORS



(B) G-PROTEIN-LINKED RECEPTORS

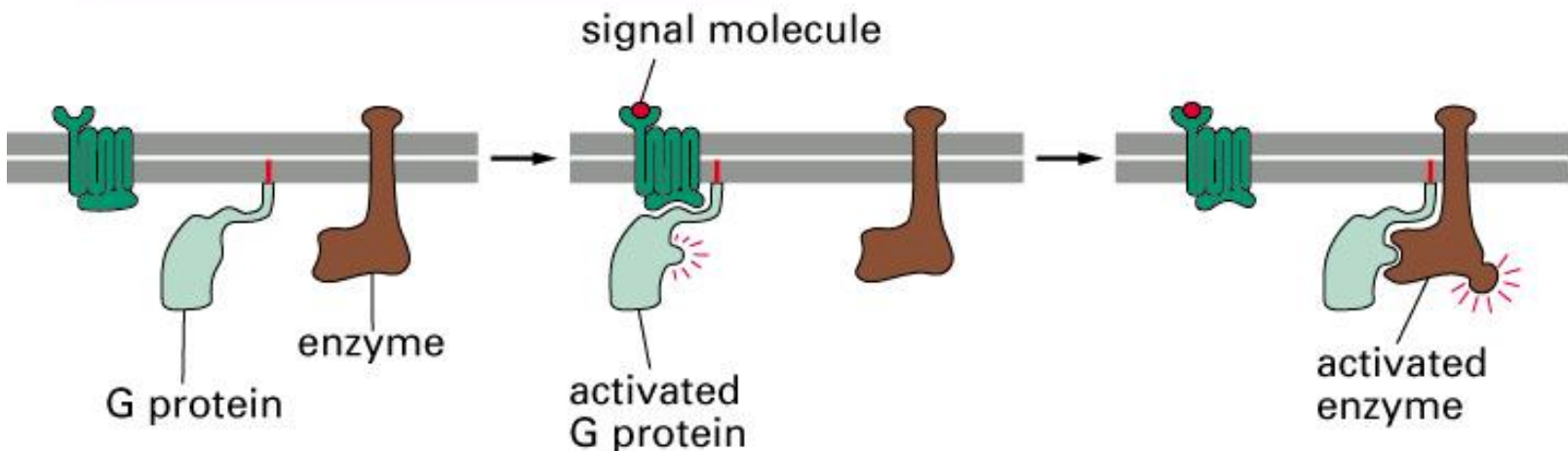


Figure 15-15 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Vnitrobuněčné receptory

Proteiny regulující transkripci genů – **superrodina receptorů pro steroidní hormony**.

Ligandy jsou malé hydrofóbní signální molekuly - steroidní a tyroidní hormony, retinoidy a vitamín D.

Typ I: lokalizovány v cytoplazmě v inaktivní formě (často spojeny s tzv. "heat shock proteiny"). Po vazbě ligandu translokace do jádra.

Příklad: receptory pro steroidní hormony (glukokortikoidy, androgen, progesteron, estrogen, dioxinový Ah receptor (vazba s proteinem Arnt)

Typ II: lokalizovány v jádře. Po vazbě ligandu konformační změny. Mohou se vázat na DNA i bez ligandu.

Příklad: tyroidní receptory (TR), receptory pro kys. retinovou (RAR, RXR), vitamín D3 (VDR), peroxisomové proliferátory (PPAR)

Dochází k **propojení drah signálové transdukce** ("cross-talk").

Tvorba **homo- a heterodimerů**: PPAR-RXR, TR-RAR

Aktivované receptory se váží na specifické sekvence DNA - **responsivní elementy**.

Dvoustupňová reakce: a) přímá indukce transkripce malého množství specifických genů během 30 minut - **primární odpověď**, b) produkty těchto genů pak aktivují další geny a vyvolávají zpožděnou **sekundární odpověď**.

Indukce charakteristické odpovědi u organismu:

- 1) jen určité typy buněk mají příslušné receptory,
- 2) každá z těchto buněk obsahuje různou kombinaci jiných (pro buněčný typ specifických) geny regulujících proteinů, které spolupracují s aktivovaným receptorem a ovlivňují transkripci specifického souboru genů.

Některé signální molekuly vážící se k molekulárním receptorům

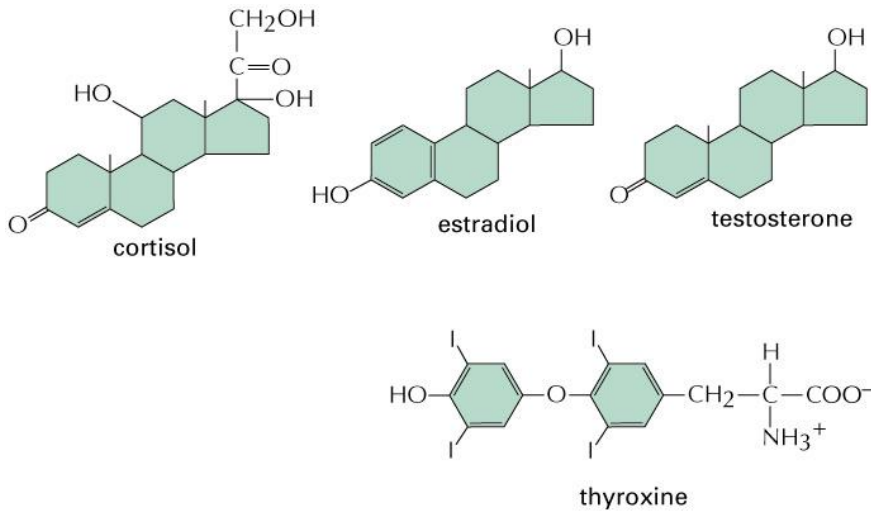


Figure 15–12 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

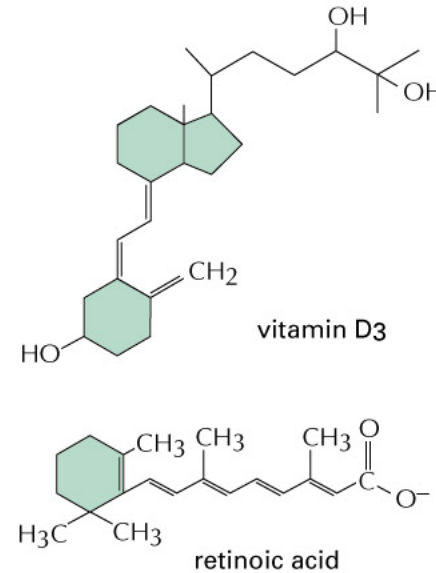


Figure 15–12 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Superrodina vnitrobuněčných receptorů

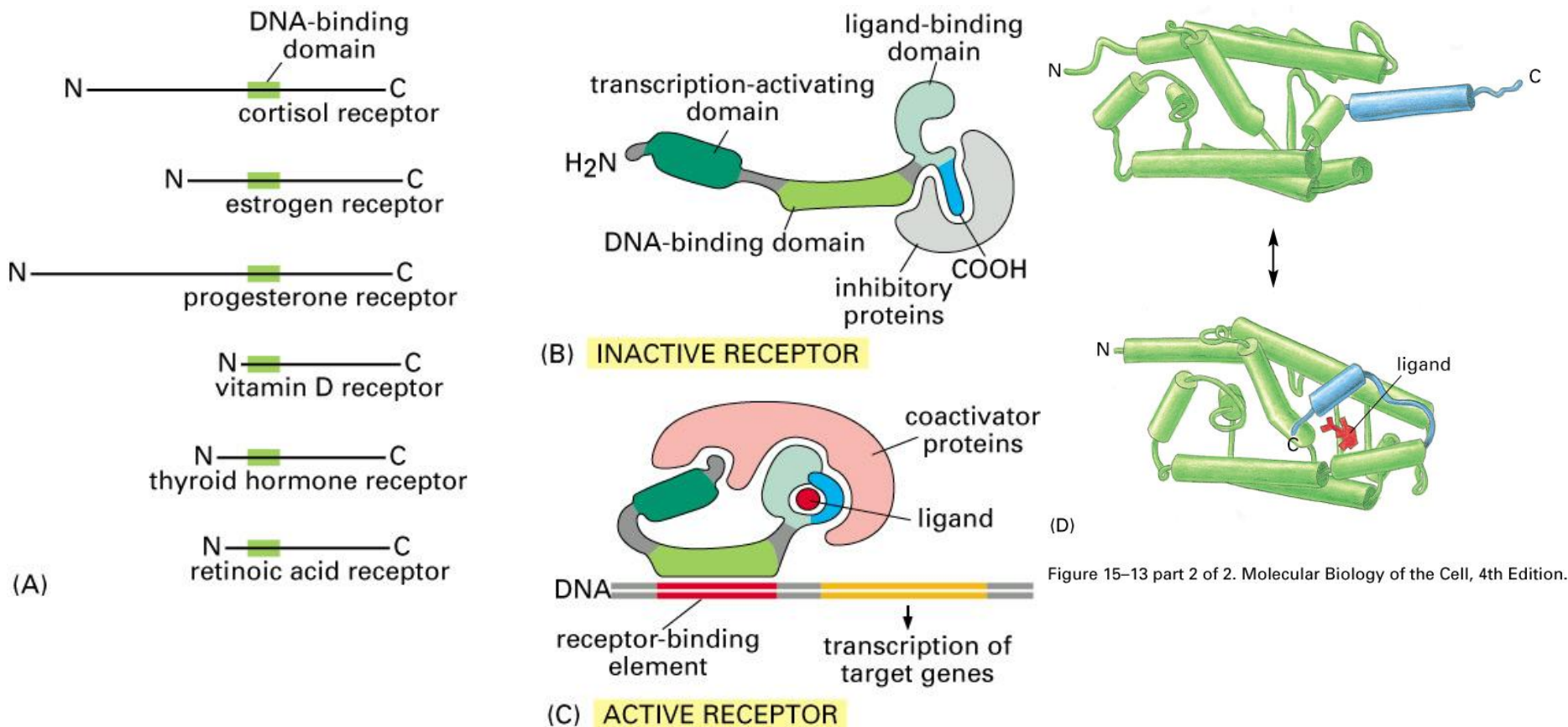


Figure 15–13 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Figure 15–13 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

- (A) Podobná struktura receptorů s vazebnou doménou
- (B) Receptorový protein v inaktivní formě vázán na inhibiční proteiny
- (C) Po vazbě ligandu disociace inhibičního proteinu a navázání koaktivátoru k transkripci aktivující doméně receptoru
- (D) Trojrozměrná struktura domény vážící ligand bez a s navázaným ligandem. Alpha helix (modře) funguje jako víčko zajišťující polohu ligandu

Odpovědi indukované aktivací hormonálních receptorů

(A) EARLY PRIMARY RESPONSE TO STEROID HORMONE (B) DELAYED SECONDARY RESPONSE TO STEROID HORMONE

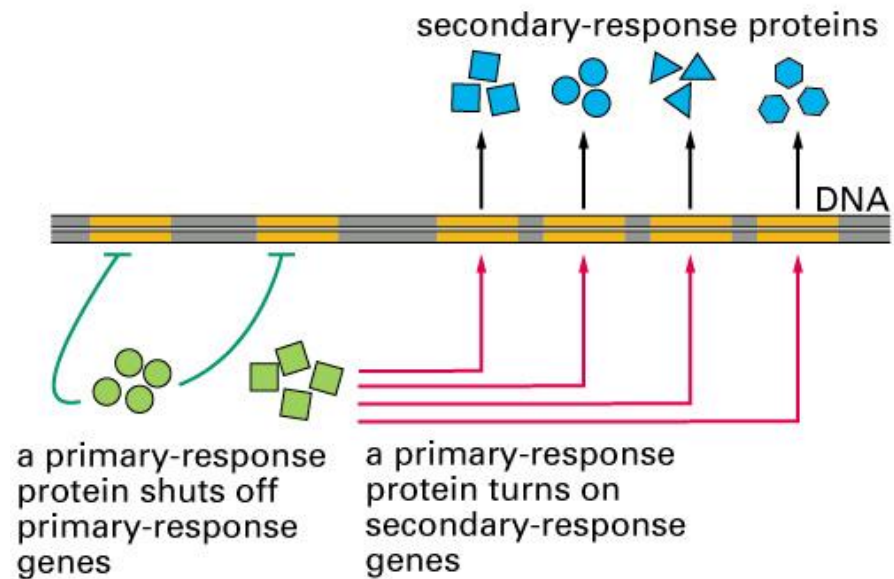
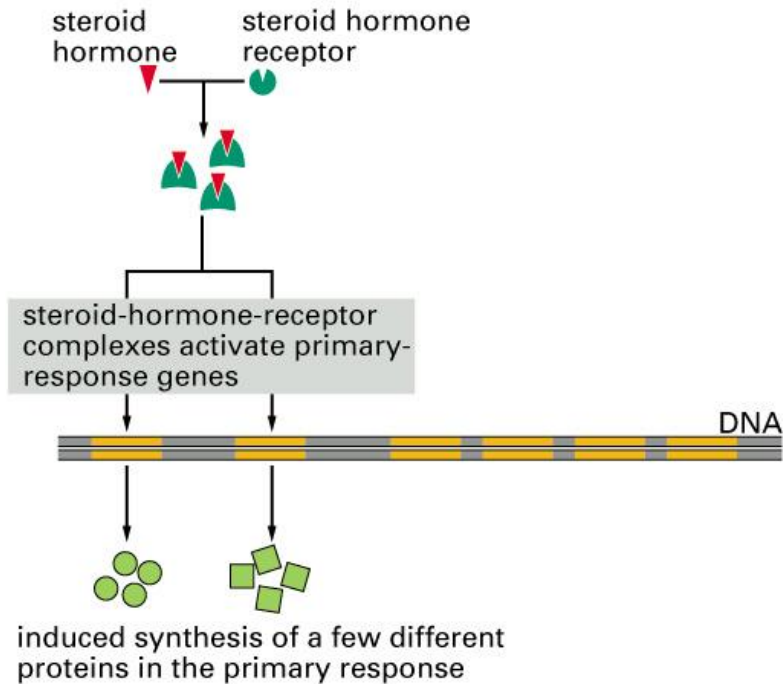


Figure 15-14 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Pět způsobů ztráty citlivosti cílové buňky k signální molekule

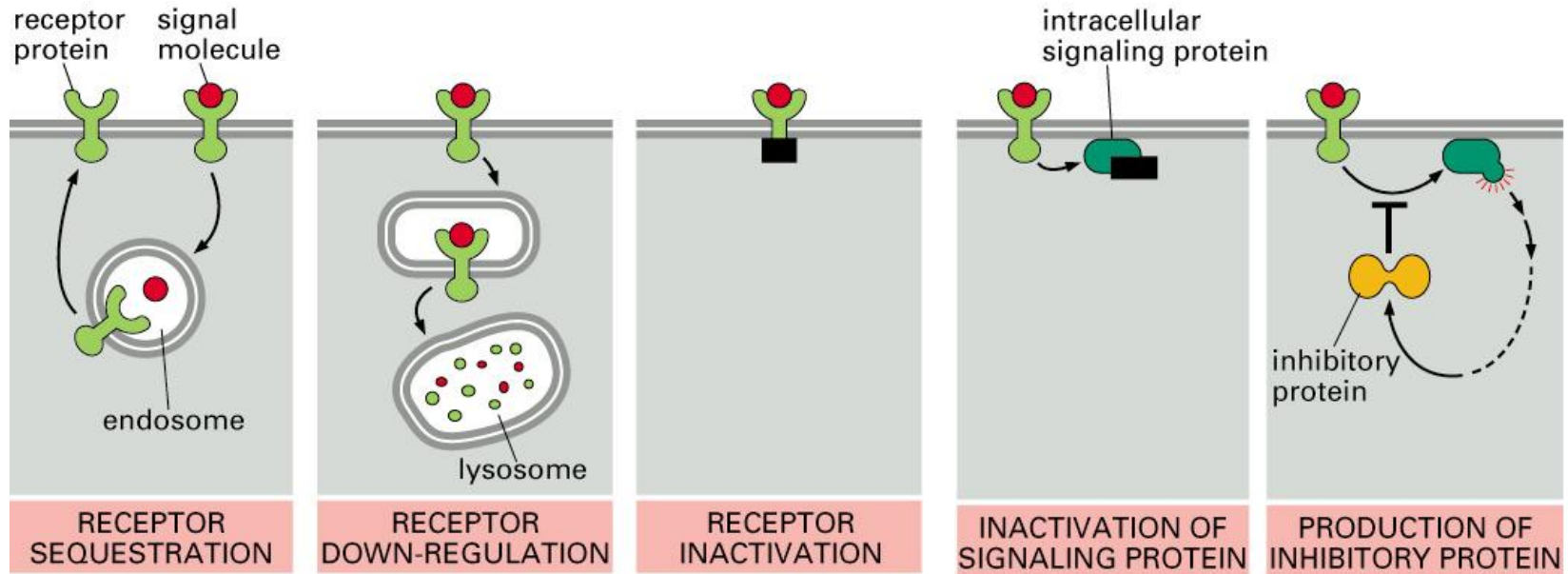
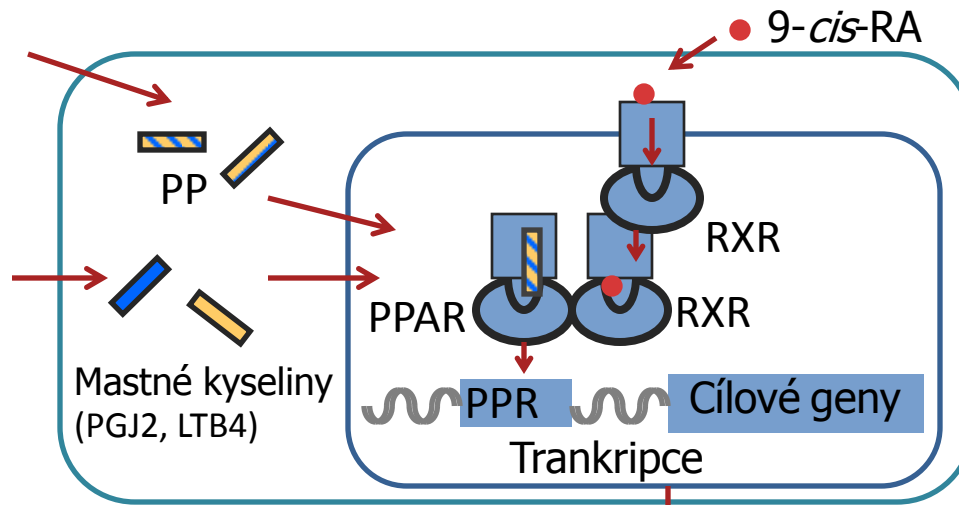


Figure 15–25 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Peroxisomové proliferátory (fibráty, ftaláty apod.)

Výživa



Důležitost PPARs v buněčné proliferaci, diferenciaci a apoptóze.

Po aktivaci, PPAR a RXR tvoří heterodimery, které se vážou na regulační sekvence cílových genů prostřednictvím PPRE na DNA.

Kontrola transkripční aktivity cílových genů PPAR vede k biologickým účinkům ovlivňujícím lidské zdraví.

LTB4, leukotrien B4; PGJ2, prostagladin J2; PP, peroxisom. proliferátor; PPAR, receptor aktivovaný PP; PPRE, responzivní element pro PP; 9-cis-RA, 9-cis-retinová kyselina; RXR, receptor pro 9-cis RA.

Specifické buněčné odpovědi

Proliferace

Diferenciace a zrání

Apoptóza

Medical relevance

* Klonální expanze preadipocytů podporující adipogenesi (účast PPAR γ .)

* Hypotetické riziko buněčné růstové stimulace aktivací PPARs.

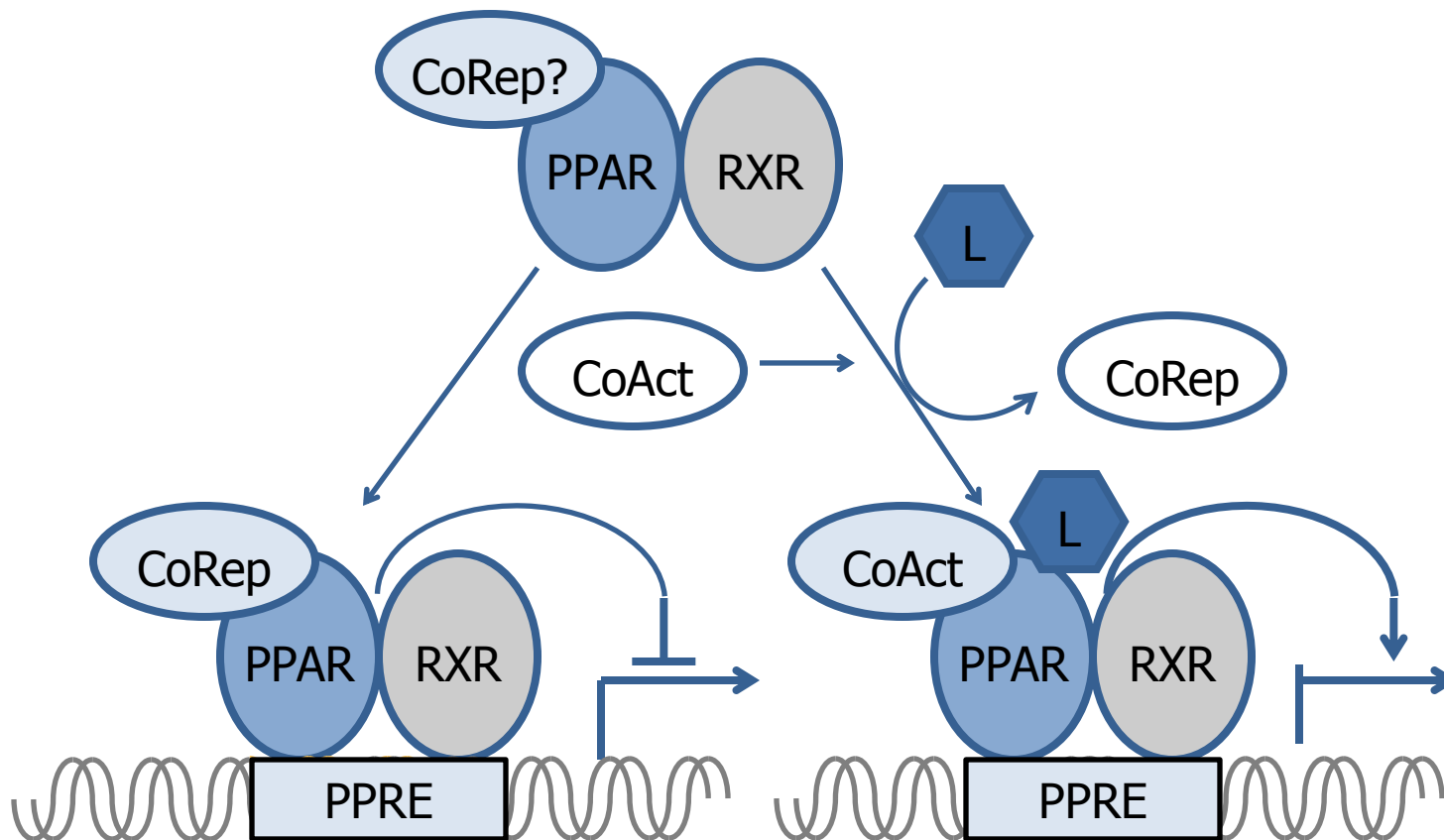
* Diferenciace monocytů / macrofágů (podíl PPAR γ) vedoucí k urychlené ateroskleróze

* Ochranné účinky PPAR α .

* Diferenciace adipocytů odpovědná za obezitu a další poruchy (podíl PPAR α .)

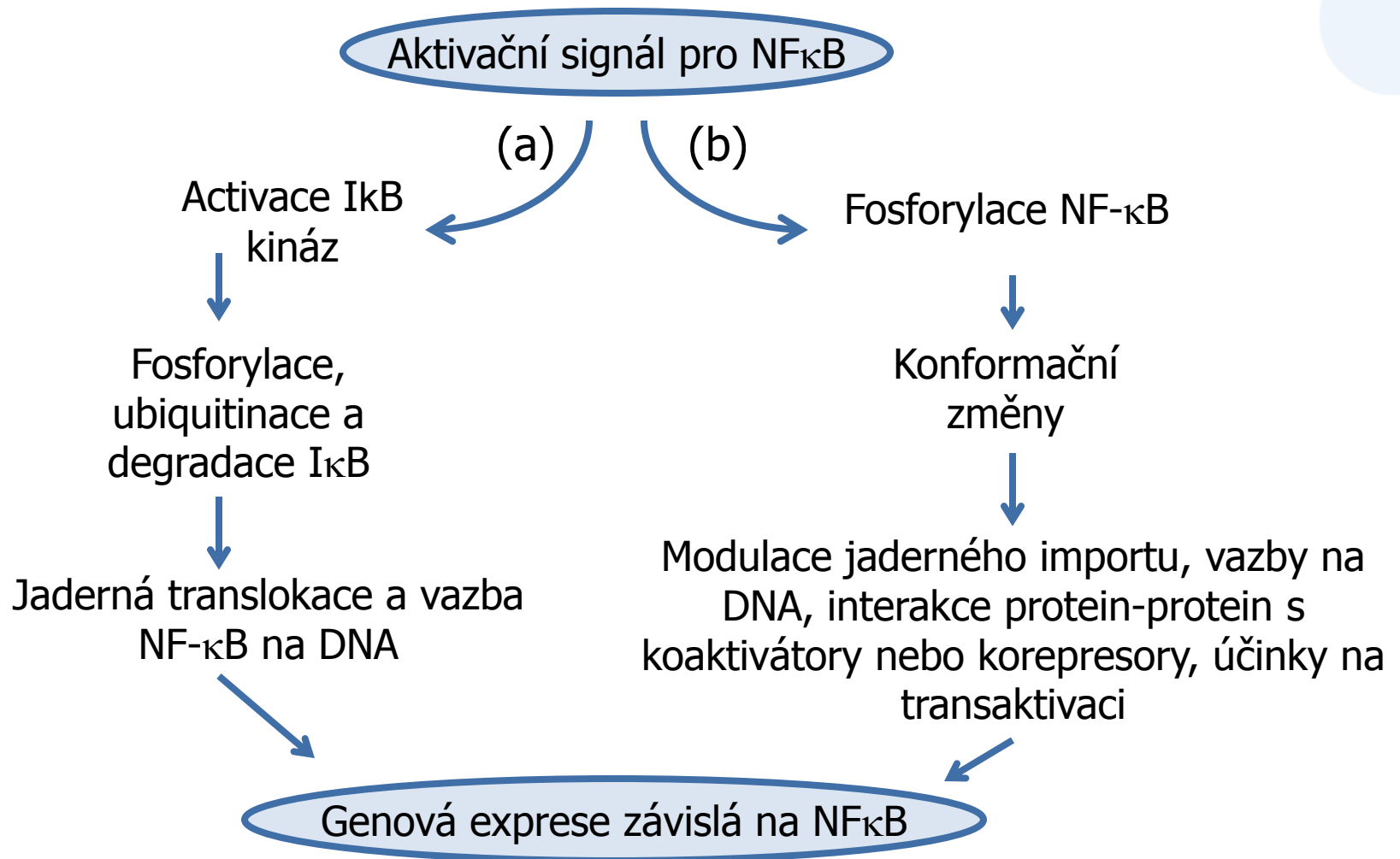
* Zvýšená exprese PPAR γ by mohla vést k apoptóze nádorových buněk a představuje možný terapeutický protinádorový přístup

Schéma signálních drah PPAR



PPARs fungují jako heterodimery s jejich obvyklým partnerem – retinoidním receptorem (RXR)

CoRep korepresor, Co Act koaktivátor, RXR receptor pro retinovou kyselinu X, PPRE responsivní element pro PP



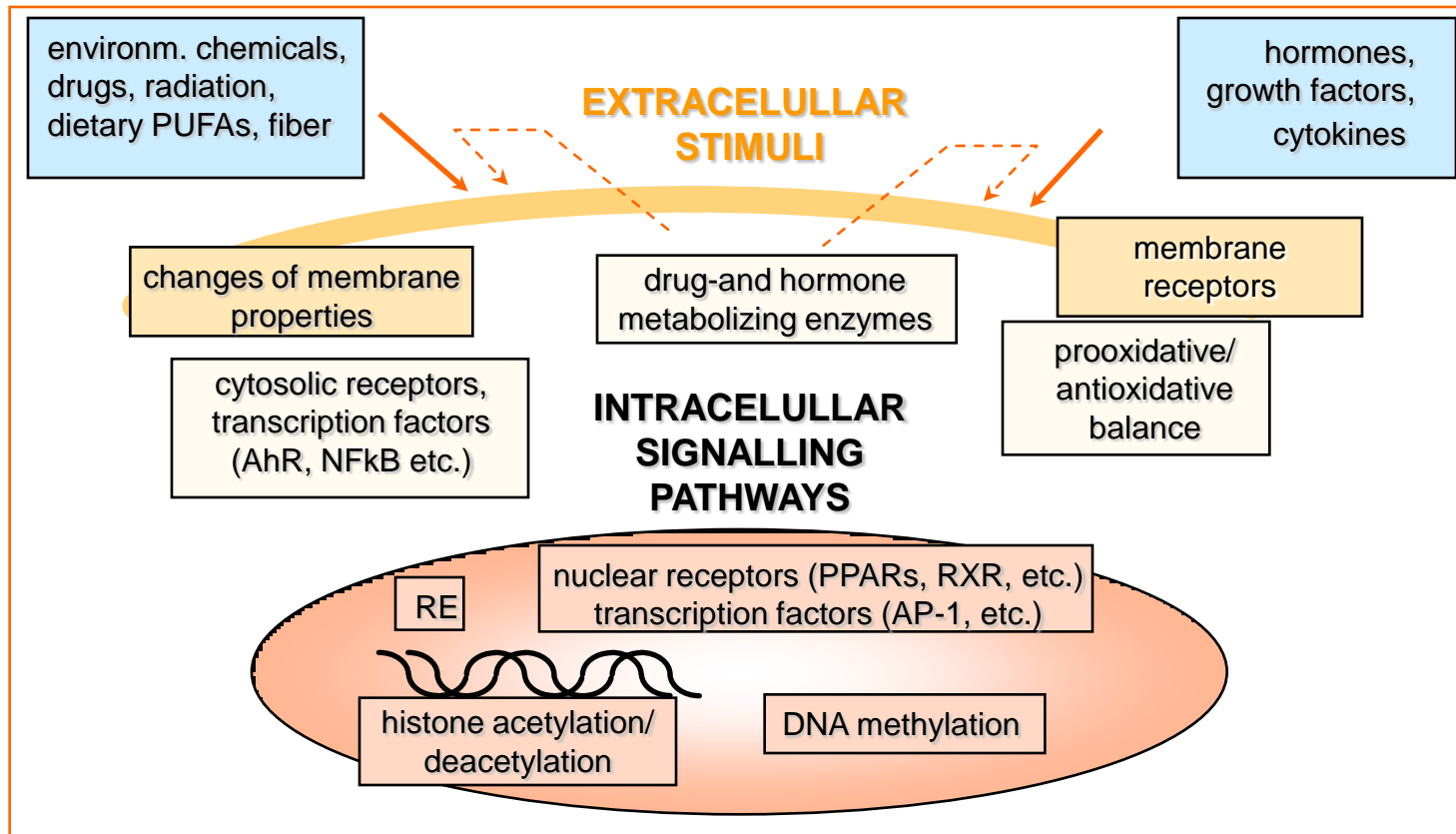
IκB-závislá a -nezávislá regulace aktivity NF-κB

- (a) NFκB je aktivován následně aktivací IκB kinázy (IKK). Fosforylace těmito kinázami vede k degradaci IκB a k translokaci NF-κB do jádra.
- (b) Současně je samotný NF-κB fosforylován cytosolickými nebo jadernými protein kinázami, které zvyšují účinnost genové exprese indukované NF-κB. Zkratky: IκB, inhibitor NF-κB; NF-κB, jaderný faktor κB.

Každá volba buňky zahrnuje epigenetické (negenotoxické) mechanismy, které mohou měnit expresi genů na transkripční, translační nebo postranslační úrovni.

Modulace mimobuněčné komunikace buď genetickou nerovnováhou růstových faktorů, hormonů, neurotransmiterů nebo látkami z vnějšího prostředí (dieta, chem. látky) může spustit signální vnitrobuněčnou transdukci. Tyto signály pak modulují expresi genů a modulují též GJIC (gap junctional intercellular communication).

V mnohobuněčném organismu zahrnuje homeostatická kontrola regulaci buněčné proliferace, diferenciace, programované smrti a adaptivní odpovědi diferencovaných buněk.



Main epigenetic (non-genotoxic) mechanisms involved in carcinogenesis